(3)

Edouard Van Beneden.

Contributions à l'histoire de la vésicule germinative et du premier noyau embryonnaire.

(avec 1 planche)

Contributions à l'histoire de la vésicule germinative et du premier noyau embryonnaire; par M. Édouard Van Beneden, membre de l'Académie.

J'ai eu l'honneur d'exposer sommairement devant l'Académie les résultats de mes recherches sur la maturation de l'ovule, la fécondation et les premiers phénomènes du développement embryonnaire du Lapin, jusqu'au moment de l'apparition de la ligne primitive.

J'ai fait connaître en particulier celles de mes observations qui établissent la disparition de la vésicule germinative, la formation des corps directeurs (*Richtungsbläschen* de Fritz Müller) et l'apparition du premier noyau embryonnaire.

La publication récente des recherches de Auerbach (1), de Bütschli (2) et de Strasburger (3) sur la formation et la division des noyaux de cellules, m'a déterminé à rechercher tout particulièrement, dans le cours de mes études sur le développement des Mammifères, comment apparaît le premier noyau de l'embryon et comment se multiplient

---

(1) Léopold Auerbach. *Organologische Studien.* Breslau, 1874.

(2) O. Bütschli. *Vorläufige Mittheilung über Untersuchungen betreffend die ersten Entwickelungsvorgänge im befruchteten Ei von Nematoden und Schnecken.* Zeits. für wiss. Zool. Bd. XXV.

2° *Vorläufige Mittheilung einiger Resultate von Studien über die Conjugation der Infusorien und die Zelltheilung.* Zeits. für wiss. Zool. Bd. XXV.

(3) Eduard Strasburger. *Ueber Zellbildung und Zelltheilung.* Iena, 1875.

les cellules dans les feuillets embryonnaires. Longtemps avant d'avoir pris connaissance de ces travaux, j'avais reconnu que la vésicule germinative du Lapin disparaît, indépendamment de la fécondation, et que la disparition de cet élément est l'indice de la maturation complète de l'ovule.

Au moment où je terminais la rédaction de ma communication préliminaire (1) sur la maturation de l'œuf, la fécondation et le développement du Lapin paraissait en Allemagne un important travail de M. O. Hertwig (2), sur la formation, la fécondation et la division de l'œuf d'un Échinoderme, de l'ordre des Échinides, le *Toxopneustes lividus*. Recherchant la solution des mêmes problèmes, mais ayant choisi comme objet de nos études des animaux appartenant à des embranchements différents, nous sommes arrivés, M. Hertwig et moi, à des solutions identiques de certaines questions d'une importance capitale, à des résultats fort différents en ce qui concerne d'autres points également fondamentaux.

Parmi les problèmes qui ont été tout autrement résolus par lui et par moi, se trouve d'abord l'histoire de la vésicule germinative; ensuite, la question de la formation du premier noyau embryonnaire.

Mes recherches sur l'ovule du Lapin m'ont démontré

---

(1) Édouard Van Beneden. *La maturation de l'œuf, la fécondation et les premières phases du développement embryonnaire des Mammifères, d'après des recherches faites chez le Lapin.* (Communication préliminaire.) Bull. de l'Acad. roy. de Belgique, 2e série, t. XL, 1875.

(2) Oscar Hertwig. *Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies.* Morphologisches Jahrbuch von C. Gegenbauer. Ier Bd. 3tes Heft.

que, chez cet animal, aucune partie morphologique de la vésicule germinative ne se retrouve plus dans le vitellus au moment de la fécondation. Le nucléole, joint à la substance qui constituait la membrane de la vésicule, est éliminé pour constituer l'un des corps directeurs; le nucléoplasme avec les pseudonucléoles sont rejetés dans le liquide périvitellin pour y former le second globule polaire. Le reste du contenu de la vésicule reste dans le vitellus et se confond avec la substance corticale de l'œuf, qui, dès ce moment, ne se laisse plus distinguer de la substance médullaire. Il ne peut donc y avoir, chez le Lapin, aucun lien génétique entre la vésicule germinative ou l'une de ses parties et le noyau embryonnaire qui apparaît dans l'œuf après la fécondation. J'ai pu du reste observer toutes les phases de la formation de ce dernier. Le premier noyau se développe aux dépens d'un corps qui naît dans la couche corticale de l'œuf et que j'ai appelé le pronucleus périphérique et d'un autre corps qui apparaît au centre du vitellus et que j'ai appelé le pronucleus central. Il est probable que le premier noyau embryonnaire n'est pas produit par la fusion des deux pronuclei : le pronucleus périphérique, d'abord plus petit que l'autre, s'agrandit aux dépens du pronucleus central. C'est, je pense, grâce à un phénomène d'endosmose, que la substance de ce dernier est absorbée par le pronucleus périphérique, après que celui-ci s'est accolé à celui-là.

D'après les observations de M. Hertwig sur le *Toxopneustes lividus* les choses ne se passent pas de cette façon. Quand la vésicule germinative a quitté le centre de l'œuf pour venir se placer sous la membrane, qu'elle est pour ainsi dire sortie du vitellus, la tache germinative abandonne à son tour la vésicule germinative; elle plonge dans

le vitellus, et devient ce que l'auteur appelle le *noyau de l'œuf* (Eikern); la vésicule germinative subit alors une métamorphose régressive; sa membrane se dissout et le résidu finit par être résorbé.

Quant à la formation du premier noyau embryonnaire, qu'il appelle *noyau du premier globe de segmentation* ou, plus simplement *noyau de segmentation*, M. Hertwig a reconnu qu'il est le produit de la conjugaison de deux noyaux. Cinq à dix minutes après que l'on a mélangé le sperme avec les œufs, il apparaît près de la surface du vitellus un petit corps homogène. Cet élément, qui a l'apparence d'une tache ou d'un espace clair, est formé par un amas de protoplasme, dépourvu de granulations. Cet espace s'agrandit un peu et devient le centre d'une figure radiée, d'un petit soleil d'où partent, dans tous les sens, des rayons dont la longueur s'accroît peu à peu. Ces rayons ne sont que des directions suivant lesquelles les granules vitellins se sont alignés. Si l'on examine avec beaucoup de soin l'espace clair, on reconnaît qu'il renferme un petit corpuscule homogène. Celui-ci possède à peu près le même pouvoir réfringent que le protoplasme ambiant, ce qui le rend peu apparent. Quelquefois Hertwig a vu partir de ce corpuscule une ligne fine qui se dirige vers la périphérie de l'œuf et se continue en un petit filament que l'on observe entre le vitellus et la membrane de l'œuf. La tache claire se déplace; elle s'approche peu à peu du centre du vitellus et va à la rencontre du noyau de l'œuf qui, lui aussi, gagne le centre de la sphère vitelline. Les deux corps finissent par se rejoindre vers le milieu de l'œuf. Le corpuscule homogène qui se trouve logé dans l'espace clair venu de la périphérie paraît formé de la même substance que le noyau

de l'œuf; il se colore comme lui par le carmin; Hertwig l'appelle un petit noyau. Il mesure 4 μ., tandis que le noyau de l'œuf n'a pas moins de 13 μ. Le noyau de l'œuf change de forme, exécute des mouvements amœboïdes, s'accroît, et se trouve bientôt enveloppé par la substance protoplasmique claire venue de la périphérie; il finit par se fondre avec le petit noyau, et c'est de la fusion des deux noyaux que naît le premier noyau de segmentation. Pendant que ces dernières modifications s'accomplissent, la figure radiée se maintient; elle s'étend même et s'accentue davantage; elle envahit tout le vitellus. Le noyau de l'œuf et le petit noyau périphérique qui lui est accolé, entourés d'une couche de protoplasme transparent et dépourvu de toute granulation, occupent le centre de la figure étoilée.

Comme l'apparition de l'espace clair près de la périphérie de l'œuf a lieu constamment 5 à 10 minutes après que l'on a mis les œufs en présence de la liqueur spermatique, Hertwig n'hésite pas à considérer la formation de cet espace comme le résultat de la fécondation. Le petit corps homogène qu'il y a constaté est une tête, le filament qui en part est la queue d'un spermatozoide. La tête du spermatozoïde est l'un des deux noyaux qui vont se conjuguer; pour ce motif Hertwig l'appelle le *noyau spermatique* (Spermakern). *Le premier noyau de segmentation est donc le produit de la fusion du noyau de l'œuf* (Eikern), *qui n'est que l'ancienne tache germinative, avec le noyau spermatique* (Spermakern), *qui est une tête de spermatozoïde. Il est le résultat de la conjugaison de deux noyaux.*

On le voit, il existe, à certains égards, une remar-

quable concordance entre les observations de Hertwig sur le *Toxopneustes* et mes recherches sur le Lapin. Tous deux nous avons reconnu 1° qu'il apparaît près de la surface de l'œuf un espace clair que j'ai appelé, pour ne rien préjuger relativement à sa signification, le *pronocleus périphérique*. Ce noyau périphérique, je l'ai considéré comme formé, au moins partiellement, de substance spermatique.

2° Ce noyau superficiel s'enfonce dans le vitellus et va à la rencontre d'un autre corps clair dont les caractères et la signification sont différents de ceux du noyau périphérique : ce corps, je l'ai appelé le *pronucleus central* de l'œuf, par opposition au *pronocleus périphérique*; Hertwig l'appelle le *noyau de l'œuf* (*Eikern*) par opposition avec son *noyau spermatique* (*Spermakern*).

3° Nous avons reconnu, l'un et l'autre, que le noyau du premier globe de segmentation appelé par moi *premier noyau embryonnaire*, par Hertwig *noyau de segmentation*, se développe aux dépens des deux éléments nucléaires après que ceux-ci se sont rejoints et accolés au centre du vitellus. Nous avons admis, l'un et l'autre, que la formation du premier noyau embryonnaire est le résultat de l'union d'un élément mâle et d'un élément femelle et quoique je n'aie pas prononcé le mot conjugaison pour exprimer le fait qui caractérise essentiellement la formation du premier noyau, l'idée n'en existait pas moins dans mon esprit.

Les faits sur lesquels nous sommes en complet désaccord sont au nombre de deux : 1° Pour M. Hertwig la tache germinative ne disparaît pas; elle devient le noyau de l'œuf (*Eikern*). D'après mes observations, il n'existe aucun lien génétique entre le pronucleus central (*noyau de l'œuf* de Hertwig) et la vésicule germinative ou l'une de

ses parties; le pronucleus central, qui apparaît après la fécondation, est un élément de formation nouvelle. 2° D'après M. Hertwig le noyau phériphérique, le spermakern, est une tête de spermatozoïde et la matière claire qui l'entoure est du protoplasme dépourvu de granulations. Dans mon opinion, l'espace clair qui apparaît dans la couche corticale de l'œuf est un corps nucléaire (le pronucleus périphérique); les corpuscules réfringents qui se montrent dans la tache sont des éléments nucléolaires. Je me propose de faire, dans les pages qui suivent, la critique des opinions exprimées par Hertwig, et de rendre compte des observations que j'ai eu l'occasion de faire sur la vésicule germinative d'un Échinoderme de l'ordre des Asterides : l'*Asteracanthion rubens*.

I. — *La tache germinative disparaît-elle ou persiste-t-elle pour devenir le pronucleus central* (*Eikern de Hertwig*)?

Hertwig émet l'opinion que la vésicule germinative disparaît chez le *Toxopneustes lividus*; mais il croit que la tache germinative (corps ou tache de Wagner) persiste pour devenir le noyau de l'œuf. La démonstration directe de cette proposition il n'a pas pu la faire : son opinion repose sur des preuves indirectes que je vais résumer.

1° Le noyau de l'œuf a les mêmes dimensions (13 μ) que la tache de Wagner; l'un et l'autre sont des corps dépourvus de membrane et ils sont formés l'un et l'autre d'une substance assez ferme et homogène.

2° De même que la substance de la tache de Wagner, le noyau de l'œuf se coagule par l'acide osmique et se colore plus fortement en noir que le vitellus. Dans le carmin ils se colorent en rouge l'un et l'autre. Par l'acide acétique et

l'acide chromique ces éléments subissent une sorte de coagulation superficielle qui fait apparaître une couche corticale finement granuleuse et à l'intérieur quelques taches également granuleuses.

3° On n'observe jamais simultanément dans le même œuf le noyau de l'œuf et la tache germinative. Tant que la tache germinative se montre dans la vésicule germinative devenue superficielle et lenticulaire, il est impossible de découvrir un noyau dans le vitellus. Dès que celui-ci existe, la vésicule germinative est dépourvue de sa tache. Les deux éléments ne font jamais défaut en même temps.

4° Hertwig n'a jamais réussi à voir la tache de Wagner subir aucune modification même dans les œufs dont la vésicule germinative était en voie de métamorphose régressive. « Für die Annahme, dass der Keimfleck, wie » das Keimbläschen zerfällt, lässt sich daher keine directe » Beobachtung anführen. » Il ne put pas davantage constater une formation nouvelle du noyau de l'œuf.

5° Au moment de son apparition le noyau de l'œuf se trouve près de la vésicule germinative ; au moment de sa disparition la tache de Wagner se trouve adjacente au vitellus.

Hertwig n'a donc pas observé directement la transformation de la tache de Wagner en ce corps qu'il appelle noyau de l'œuf; *il n'a jamais vu le corps de Wagner sortir de la vésicule germinative pour plonger dans le vitellus.* Dès lors il doit rester un doute sur l'identité de ces deux éléments, quels que soient, du reste, les arguments qu'il invoque pour chercher à établir cette identité. C'est ce que Hertwig reconnaît lui-même quand il écrit : « Bei Abwägung aller dieser Verhältnisse kann zwar die » Möglichkeit, dass der Keimfleck sich auflöst und der

» Eikern neu entsteht, solange nicht der directe Ueber-
» gang des ersteren in den letzteren beobachtet ist, nicht
» ganz von der Hand gewiesen werden. »

Il y a lieu de faire, en outre, au sujet des arguments qu'il apporte pour appuyer son opinion les observations suivantes :

1° Les preuves tirées des caractères physiques et microchimiques du noyau de l'œuf n'ont qu'une valeur très-secondaire; car ces caractères communs à la tache de Wagner et au noyau de l'œuf sont des caractères propres à tout jeune noyau. La seule conclusion que l'on puisse légitimement tirer de ces faits est que le noyau de l'œuf est un jeune noyau.

2° De ce que l'on ne trouve jamais simultanément la tache germinative et le noyau de l'œuf, il ne résulte pas nécessairement que l'un soit la transformation de l'autre. Le moment de la disparition du nucléole coïncide avec le moment de l'apparition du noyau de l'œuf; mais en résulte-t-il que l'apparition de l'un soit déterminée par la disparition de l'autre? La simultanéité de ces deux phénomènes est néanmoins surprenante : d'après mes observations sur les Mammifères, la formation du pronucleus central est consécutive à la fécondation, et, par conséquent, bien postérieure à la disparition de la vésicule germinative.

3° J'ai été fort étonné, après avoir lu le travail de Hertwig, de n'y avoir trouvé aucune mention des corps directeurs (*Richtungsbläschen*), qui ont été constatés chez beaucoup d'Échinodermes, et qui ne peuvent manquer de se trouver également chez le *Toxopneustes*. Il eût été fort intéressant de savoir comment se forment ces éléments chez cet Échinoderme. D'après mes observations l'un de ces

corps n'est autre chose, chez le Lapin, que la tache germinative rejetée dans le liquide périvitellin, après sa fusion préalable avec la membrane de la vésicule germinative.

4° Il me semble que Hertwig passe bien légèrement sur les différences qu'il a lui-même constatées entre l'aspect que présente le noyau de l'œuf et les caractères de la tache germinative. Je ne crois pas, pour ma part, que la nature des milieux où l'on observe ces éléments puisse rendre compte des différences considérables qui existent, d'après les dessins de M. Hertwig, entre la tache de Wagner et le noyau de l'œuf. Les raisons qui m'engagent à émettre cette opinion résultent des observations qui seront exposées plus loin.

5° Hertwig n'a jamais vu de modifications se produire dans les caractères du corps de Wagner pendant la métamorphose régressive de la vésicule germinative. En cela j'ai été plus heureux que lui; il est vrai je n'ai pas étudié moi-même les œufs du *Toxopneustes;* mais j'ai fait, il y a dix-huit mois, des observations sur la vésicule germinative d'un Échinoderme de nos côtes, l'*Asteracanthion rubens.* Il résulte de mes recherches que, chez cet animal, la tache de Wagner disparaît dans la vésicule germinative avant que les caractères de cette dernière se modifient. Il n'est pas admissible que, chez l'Étoile de mer, la tache de Wagner subirait des modifications progressives, qui amènent sa dissolution complète dans la vésicule germinative, tandis que, chez le *Toxopneustes lividus*, cet élément deviendrait l'une des parties constitutives du premier noyau de segmentation. Hertwig n'a pas vu la tache germinative subir de modifications; pour ma part, je suis très-porté à croire que, chez cet Échinide, cet élément se résout, avant de se dissoudre dans le contenu de la vésicule de Purkinje, en

un certain nombre de fragments et je crois pouvoir m'appuyer sur les figures de Hertwig lui-même, pour établir que chez le *Toxopneustes* la tache de Wagner subit les mêmes modifications que chez l'Étoile de mer.

Avant d'exposer mes observations sur le mode de disparition de la vésicule germinative chez l'*Asteracanthion rubens*, je crois devoir dire brièvement dans quelles conditions, pour quelles raisons et sous l'influence de quelles idées j'ai entrepris ces recherches.

A l'époque où j'ai présenté à l'Académie mon Mémoire sur la composition et la signification de l'œuf, j'étais bien convaincu que la vésicule germinative ne disparaît pas, mais qu'elle se divise, après la fécondation, pour donner naissance aux noyaux des deux premiers globes de segmentation (1). Jusqu'au jour où Joh. Müller publia ses recherches sur l'*Entoconcha mirabilis* (2), personne ne doutait de la disparition de la vésicule germinative. Dans son article « *Zeugung* » publié dans le *Handwörterbuch de R. Wagner*, Leuckart formulait en ces termes la conclusion qu'il croyait pouvoir tirer de la comparaison de toutes les recherches faites sur cette question (3) :

« *Fassen wir alle diese Thatsachen zusammen, dann* » *kann es wirklich kaum noch zweifelhaft bleiben dass* » *das Verschwinden des Keimbläschens einen Vorgang* » *bezeichnet, der mehr der Bildungsgeschichte des Eies,* » *als der Entwickelungsgeschichte des späteren Embryo*

---

(1) *Recherches sur la composition et la signification de l'œuf basées sur l'étude de son mode de formation et des premiers phénomènes embryonnaires.* Mém. cour. de l'Acad roy. de Belgique. T. XXXIV.

(2) Joh. Müller. *Uber Synapta digitata und über die Erzeugung von Schnecken in Holothurien.* Berlin 1852, p. 17.

(3) *Handwörterbuch der Physiologie von R. Wagner. Art. Zeugung von R. Leuckart*, p. 922.

» *zugehört. Das Einzige, was der Aufbau eines neuen* » *Thieres voraussetzt, ist die Anwesenheit eines entwicke-* » *lungsfähigen Materiales.* »

Telle était la pensée que partageaient alors l'immense majorité, sinon tous les naturalistes. Mais si grande était l'autorité de Joh. Müller, si complète la confiance que l'on avait dans ses observations et les conclusions qu'il en tirait, que l'opinion qu'il émit sur la permanence et la division de la vésicule germinative de l'Entoconcha fit révoquer en doute toutes les affirmations consignées dans les travaux antérieurs.

Bientôt après Leydig (1) annonce qu'il vient de confirmer chez les Rotateurs les résultats obtenus par Müller dans ses études sur le développement de l'Entoconcha. Mecznikow (2) observe la division de la vésicule germinative chez les Cécidomyes et les Aphides. « Il n'est guère possible, » dit-il, » de révoquer en doute la généralité de » ce fait chez les insectes. » Pagenstecher (3) fait la même observation chez les Trichines; Leuckart (4) chez les Oxyures; Keferstein (5) chez le *Leptoplana tremellaris;* Gegenbauer (6) chez des Méduses, des Siphonophores (Co-

---

(1) Fr. Leydig. *Ueber den Bau und die systematische Stellung der Räderthiere.* Zeit. für wiss. Zool. Bd. VI, p. 102.

(2) Mecznikow. *Embryologische Studien an Insecten.* Zeitschrift für wiss. Zool. Bd. XVI, p. 484.

(3) Pagenstecher. *Die Trichinen.* Leipzig, 1865.

(4) Leuckart. *Die menschlichen Parasiten*, Bd. II, 2e Lief, p. 322.

(5) Keferstein. *Beiträge zur Anatomie und Entwickelungsgeschichte einiger Seeplanarien.* Göttingen, 1868.

(6) Gegenbauer. *Beiträge zur näheren Kenntniss d. Siphonophoren.* Zeitschrift für wiss. Zool. Bd. V. — *Zur Lehre vom Generationswechsel bei Medusen und Polypen*, p. 24. — *Untersuchungen über Pteropoden und Heteropoden.* Leipzig, 1855. — *Ueber die Entwickelung der Sagitta.* Halle, 1856.

rynides, Calycophorides et Physophorides), des Ptéropodes, des Hétéropodes, enfin chez les Sagitta. Haeckel (1) et Kölliker (2) confirment, en ce qui concerne les Siphonophores les données de Gegenbauer. Enfin, moi-même je constate la division de la vésicule germinative dans l'œuf si transparent et si facile à observer du *Distoma Cygnoïdes* (3). Me fondant tant sur mes observations personnelles que sur celles de tous les naturalistes éminents que je viens de citer, j'ai exprimé sous une forme dubitative, l'opinion déjà énoncée d'une façon tout aussi générale par Leydig (4), que la disparition de la vésicule germinative n'est qu'apparente, et que le développement embryonnaire commence par la division de cet élément. Voici comment je me suis exprimé : « En résumé, je considère *non comme » démontré, mais comme très-probable*, que la vésicule » germinative se divise au lieu de disparaître (5). »

J'appuyais cette proposition de diverses considérations plus ou moins plausibles, et je faisais remarquer en particulier que la disparition de la vésicule n'avait jamais été observée; que la démonstration directe de sa disparition n'avait jamais été faite.

Je dois ajouter que la proposition contraire ne reposait pas non plus sur l'observation directe; aucun des auteurs qui ont affirmé la permanence de la vésicule n'a fondé son opinion sur d'autres considérations que sur un fait négatif. *Ils ont affirmé que la vésicule ne disparaît pas,*

---

(1) E. Haeckel. *Zur Entwickelungsgeschichte der Siphonophoren*. Utrecht, 1869.

(2) Kölliker. *Die Schwimmpolypen von Messina*, Leipzig, 1853.

(3) Édouard Van Beneden. *Loc. cit.*, p. 30.

(4) *Lehrbuch der Histologie*, p. 10.

(5) *Loc. cit.*, p. 244.

parce que jamais ils n'ont observé un œuf dépourvu de tout noyau.

Quelques observateurs ont voulu voir un lien génétique entre le noyau de l'œuf fécondé et la tache de Wagner. Leydig (1) a exprimé cette opinion en ce qui concerne les œufs du Piscicola; von Baër (2) à propos du développement d'un Oursin. Bischoff (3) fait dériver de la tache germinative du Lapin non-seulement les corps directeurs, mais aussi le noyau qui se trouve dans l'œuf après la fécondation. Mais Bischoff avoue que c'est là, à ses yeux, une simple hypothèse; il l'a du reste abandonnée peu après (4) et il l'a déclarée insoutenable dans ses travaux ultérieurs. Tout récemment Fol (5) a trouvé, dans l'œuf mûr des Méduses, un noyau au sujet duquel il se trouve dans le doute, ne sachant s'il est la vésicule germinative modifiée ou la tache de Wagner. Enfin Hertwig vient de donner un nouveau crédit à cette opinion chancelante, par la publication de son récent travail, qui ne peut manquer de produire un très-grand effet.

Peu de temps après la publication de mon Mémoire sur la composition et la signification de l'œuf, deux publications de la plus haute importance, au point de vue de la question qui nous occupe, virent le jour en Allemagne.

---

(1) Leydig. *Zur Anatomie von Piscicola geometrica.* Zeits. für wiss. Zool. Bd. I.

(2) K. E. von Baër. *Neue Untersuchungen über die Entwickelung der Thiere.* Froriep's Neue Notizen. Bd. 39, p. 38.

(3) Bischoff. *Entwickelungsgeschichte des Kanincheneies*, 1842.

(4) *Entwickelungsgeschichte des Hundeeies*, 1845.

(5) Fol. *Die erste Entwickelung des Geryonideneies.* Jenaïsche Zeitschrift. Bd. VII, p. 474.

Œllacher (1) établit que dans l'œuf mûr du Saumon la vésicule germinative gagne la surface du germe et qu'elle s'ouvre dans l'espace, qui existe, à ce moment, entre le vitellus et la membrane de l'œuf. L'ouverture grandit; la membrane de la vésicule se détache progressivement de son contenu. Celui-ci finit par être évacué et la membrane s'étale à la surface du germe. Des observations du même auteur sur la vésicule germinative du poulet sont une remarquable et complète confirmation des conclusions auxquelles était arrivé, il y a quarante ans, l'illustre von Baër.

Peu après parurent les belles recherches de Kleinenberg sur l'anatomie et le développement de l'Hydre d'eau douce. Kleinenberg (2) expose de la manière suivante le mode de disparition de la vésicule germinative : « Vers le » moment où la production des pseudo-cellules est ter- » minée, la tache germinative subit une métamorphose » régressive. Elle perd d'abord son contour circulaire et » devient irrégulière et anguleuse; sa substance paraît » coagulée; puis elle se résout en petits fragments et » ceux-ci, si je ne me trompe, finissent par se dissoudre. » Aussi longtemps que l'œuf était un corps amœbiforme, » la vésicule germinative se trouvait au centre du vitel- » lus; mais dès que l'œuf commence à s'arrondir, elle » prend une position excentrique et s'approche du pôle » tourné vers l'extérieur. Elle se place près de la surface » et n'est plus recouverte que par une mince couche de » substance plasmique. Ici elle commence, elle aussi, à

---

(1) Œllacher. *Beiträge zur Geschichte des Keimbläschens im Werbelthierei.* Archiv. für mikrosk. Anat. Bd. VIII.

(2) Kleinenberg. *Hydra.* Leipzig, 1872, p. 42.

» subir une métamorphose régressive qui se termine par
» sa disparition complète. Son contenu granuleux se
» liquéfie de plus en plus; une partie de ce contenu sort
» par la membrane, d'où résulte que celle-ci, qui jusqu'ici
» était restée régulièrement tendue, s'affaisse pour former
» un tube généralement ovoïde, dont la paroi est épaissie
» et plissée en certaines places. La partie du contenu
» qui est restée à l'intérieur se résout en corps isolés et
» brillants, dont la forme est arrondie ou anguleuse et
» dont les dimensions sont très-différentes; entre eux
» sont disséminées quelques gouttelettes d'une graisse
» liquide. »

Kleinenberg pense que ces corps sont formés d'une matière grasse ou tout au moins qu'ils consistent en cette matière qui résulte de la transformation des matières albuminoïdes, et que nous observons dans un si grand nombre de tissus pathologiques où leur apparition annonce la dégénérescence graisseuse. Pour lui la vésicule germinative disparaît par dégénérescence graisseuse. Une fois Kleinenberg a cru observer un véritable trou dans la membrane de la vésicule germinative. « Si ce phénomène est
» normal, » dit Kleinenberg, « il est possible que le con-
» tenu de la vésicule sort et se mêle au plasma ambiant. »
La question de savoir ce que devient la membrane n'a pas été résolue; mais ce qui est certain, d'après Kleinenberg, c'est que toute trace de la vésicule germinative a disparu depuis longtemps au moment où la fécondation a lieu.

Grâce aux observations de OEllacher et de Kleinenberg, la disparition de la vésicule germinative se trouvait directement démontrée; dès lors il n'était plus possible de soutenir la persistance de la vésicule germinative chez tous les animaux, à moins de nier les faits observés. La question

entrait donc dans une phase nouvelle. Deux observateurs qui comptent certainement parmi les plus éminents de l'époque venaient d'établir *comment la vésicule germinative disparaît.* A partir de ce moment il n'y avait plus que deux alternatives possibles : ou bien il fallait admettre que la vésicule germinative ne joue pas le même rôle chez tous les animaux; qu'elle disparaît chez les uns, qu'elle persiste et qu'elle se divise chez les autres; ou bien il fallait reconnaître que toutes les observations faites par Müller, Leydig, Gegenbauer, Leuckart, Pagenstecher, Mecznikow, Kölliker, Haeckel et par moi-même sont erronées ou tout au moins que les conclusions tirées des faits observés sont peu conformes aux principes de la logique. Je crois que cette dernière hypothèse est des trois la plus probable : l'opinion qui consistait à affirmer la permanence de la vésicule germinative reposait, en définitive, sur des faits négatifs : on affirmait que cet élément ne disparaît pas, parce que l'on n'avait jamais trouvé d'œuf dépourvu de tout noyau central. Mais de ce que l'on n'ait pas trouvé un seul œuf dépourvu de tout noyau central, il n'en résulte pas strictement que la vésicule germinative persiste. Les doutes que les observations de Œllacher et de Kleinenberg avaient fait naître dans mon esprit m'engagèrent à faire de nouvelles recherches. Il était important de choisir, pour faire sur ce point de nouvelles observations, des œufs présentant au plus haut degré possible la transparence et l'homogénéité du vitellus; il fallait qu'en outre ils se distinguassent par les dimensions de la vésicule germinative et de la tache de Wagner. Les œufs des Échinodermes et en particulier ceux de l'*Asteracanthion rubens* réalisent au plus haut degré ces conditions. A la fin d'avril 1874 je me rendis à Ostende dans le but de faire la fécondation artificielle de ces œufs.

Il n'y a pas bien longtemps on ignorait encore si les Étoiles de mer sont à sexes séparés : Tiedemann déclare n'avoir pas trouvé les organes mâles de ces animaux (1). Rien n'est pourtant plus facile que de distinguer les ovaires des testicules. Il est vrai les organes sexuels ont dans les deux sexes la même forme, la même position, le même volume : quand elles ont atteint leur complet développement les cinq paires de glandes sexuelles s'étendent dans toute la longueur des bras ; elles soulèvent fortement la peau du côté du dos, de sorte qu'on reconnaît, même à l'extérieur, les individus chez lesquels les produits sexuels sont arrivés à maturité. Il suffit de l'examen microscopique le plus superficiel pour distinguer le contenu des testicules de celui des ovaires, et l'on apprend bientôt à reconnaître le sexe, même à l'œil nu : les ovaires ont une teinte jaunâtre ou brunâtre très-pâle; les testicules sont d'un blanc de lait tout à fait pur. En outre les lobules de la grappe ovarienne sont plus arrondis et plus courts; ceux de la glande sexuelle mâle sont allongés et plutôt de forme tubulaire.

Je décrirai d'abord l'œuf ovarien tel qu'il se présente, quand, déjà libre dans la cavité de l'ovaire, il a atteint les dimensions de l'œuf mûr, mais que sa vésicule germinative est encore logée au centre du vitellus.

Ces œufs ont ou bien une forme ellipsoïdale ou bien ils sont pyriformes. Leurs dimensions varient entre 0,16 sur 0,13 et 0,19 sur 0,17 millimètres. Ils se constituent d'une enveloppe épaisse et tout à fait homogène, d'un vitellus

---

(1) Tiedemann, *Anatomie der Röhren-Holothurie des pomerangfarb. Seesterns*, etc., 1816, p. 42.

finement granuleux et très-clair et d'une vésicule germinative qui se trouve dans le voisinage du centre du vitellus.

Membrane. C'est encore une question de savoir s'il existe autour de l'œuf des Astérides une seule ou deux membranes; on ne sait pas davantage quelle est la nature et la signification de ces enveloppes. Si l'on examine les œufs frais qui ont atteint les dimensions de l'œuf mûr et qui ont encore leur vésicule germinative centrale, on distingue autour du vitellus une zone claire ayant une épaisseur de 0,003 à 0,004 millimètres. Elle est tout à fait claire, transparente et homogène. Elle est limitée au contact du vitellus par un contour très-net; du côté externe au contraire son contour est si pâle et si peu marqué, qu'il faut une grande attention pour l'apercevoir. L'indice de réfraction de la substance qui constitue cette membrane doit être très-semblable à celui de l'eau. Cette substance est très-molle; elle paraît être une matière gélatineuse, mucilagineuse ou albuminoïde; de là les noms de « *Gallerthülle, Eiweissschicht, couche mucilagineuse,* » qui lui ont été donnés. Plus récemment Hoffmann (1) l'a appelée *membrane vitelline.* Pour bien voir les caractères de cette membrane, il faut éviter de l'examiner dans l'eau. Dès qu'elle arrive au contact de l'eau elle gonfle considérablement; on peut l'étudier convenablement en portant directement les œufs dans l'acide osmique à 1 °/₀ ou dans l'acide picrique en solution concentrée. Elle ne se colore pas en rouge par les matières carminées; elle se dissout partiellement ou se contracte fortement par un séjour prolongé

---

(1) C. K. Hoffmann. *Sur l'anatomie des Astérides.* Extrait des Archives néerlandaises, t. IX.

dans l'alcool absolu. Après un certain temps de séjour dans l'alcool, on n'aperçoit plus autour du vitellus qu'une membrane très-mince qui, en certains points, s'applique immédiatement sur le globe vitellin, tandis qu'ailleurs elle s'en écarte en formant des ondulations plus ou moins régulières. Si l'on examine cette couche transparente dans des œufs qui n'ont pas atteint leur complet développement, on distingue une striation radiée due à la présence de pores en canalicules d'une extrême ténuité. On sait depuis longtemps que les œufs des Holothuries présentent le même caractère.

Jamais je n'ai observé dans les œufs des Étoiles de mer le canal que J. Müller a découvert dans les œufs de plusieurs Holothuries et qui a été considéré comme faisant fonction de micropyle. Cependant dans les œufs pyriformes la couche transparente est souvent un peu plus mince à l'extrémité caudale de la poire.

Derbès a trouvé dans l'œuf des Échinides, indépendamment de *la zone mucilagineuse,* que je viens de décrire, une mince membrane immédiatement appliquée sur la surface du vitellus et qu'il appelle membrane vitelline. Plusieurs auteurs ont affirmé après Derbès l'existence de cette seconde membrane, non-seulement chez les Échinides, mais aussi chez les Holothurides et chez les Astérides. Je n'ai pas pu me convaincre de l'existence de cette membane dans l'œuf de l'*Asteracanthion rubens.*

Quelle est la signification de la couche transparente qui existe autour de l'œuf chez tous les Échinodermes? Quel nom faut-il lui donner? Il n'est pas possible dans l'état actuel de nos connaissances sur la formation de l'œuf de ces animaux de répondre à ces questions. J'ai des raisons de croire que cette membrane n'est pas produite par

l'œuf lui-même et qu'elle a le même mode de formation que la zone pellucide des Mammifères. Si mon opinion est exacte, il y aurait lieu de la désigner sous le nom de Chorion. Comme ses caractères microscopiques sont assez semblables à ceux de la zone pellucide des Mammifères, on pourrait, au moins provisoirement, la désigner sous ce dernier nom, qui a pour avantage de rappeler ses caractères physiques, sans rien préjuger quant à sa valeur morphologique.

Vitellus. Le vitellus est formé d'une substance fondamentale claire et transparente (protoplasme) et de granules vitellins peu réfringents tenus en suspension dans le protoplasme. Ces granules sont formés d'une substance dont la réfringence l'emporte fort peu sur celle du protoplasme vitellin. Il en résulte que la transparence de l'œuf est à peine altérée par leur présence. L'absence de tout élément vésiculaire ou globulaire et de toute substance très-réfringente fait que le corps de l'œuf n'a pas l'apparence d'une émulsion. Le vitellus est clair, transparent et finement granuleux. Cette circonstance rend ces œufs éminemment favorables à l'étude des modifications que subit la vésicule germinative, dans l'œuf arrivé à maturité.

Il y a lieu de distinguer dans le vitellus des œufs de l'Étoile de mer, deux zones, ou si l'on veut, deux substances : une zone corticale dont l'épaisseur est à peu près égale au tiers du rayon du vitellus et une masse médullaire. La couche corticale est plus claire et moins granuleuse que la masse médullaire; elle présente en outre une légère striation radiée qui me paraît manquer dans la masse médullaire. La limite entre les deux parties constitutives du vitellus n'est pas marquée par une ligne bien nette : la substance corticale de l'œuf passe insensiblement à la substance médullaire. Néanmoins la zone de transition est

fort mince. Cette distinction entre les deux substances constitutives du vitellus de l'œuf des Astérides a échappé à tous ceux qui ont étudié les produits sexuels de ces Échinodermes. Elle n'a été signalée jusqu'à présent chez aucun animal de cet embranchement, et je m'étonne que Hertwig, qui a étudié avec tant de soin les œufs du *Toxopneustes*, ne l'ait pas observée.

Vésicule germinative. La vésicule germinative est parfaitement sphérique; elle est logée au milieu de la masse médullaire de l'œuf. Elle est délimitée par une ligne très-nette et foncée. Son diamètre est de 0,03 à 0,04 millimètres. Elle renferme un liquide clair, transparent et parfaitement homogène.

Si on examine la vésicule germinative dans le vitellus, on reconnaît qu'elle présente une tache germinative volumineuse et très-apparente et à côté d'elle un certain nombre de globules beaucoup plus petits qui sont des pseudonucléoles. La tache germinative, qui est le nucléole de l'œuf, est très-volumineuse; elle mesure environ 0,011 à 0,015 millimètres. Elle est circulaire, et son contour est bien régulier; quelquefois la tache de Wagner paraît bosselée à sa surface; d'autres fois enfin elle est angulaire et tout à fait irrégulière. Elle est formée d'une substance très-réfringente et fort brillante qui renferme des vacuoles claires dont le nombre et le volume varient d'un œuf à l'autre. Les vacuoles ont déjà été signalées par Leydig dans l'œuf de l'*Holothuria tubulosa*: « *Der Keimfleck des fertigen* » *Eies ist bedeutend schärfer contourirt als das Keim-* » *bläschen, fast fettartig und zeigt ein oder mehrere Ca-* » *vitäten.* » Hertwig a observé que dans les œufs du *Toxopneustes* la tache de Wagner renferme tantôt une, tantôt plusieurs vacuoles.

Je n'ai pas constaté directement, dans les œufs que je décris, que le nucléole exécutât des mouvements amœboïdes. Depuis longtemps de la Valette (1) a signalé ce fait que, dans l'œuf d'une Libellule, on peut voir la tache germinative changer de forme et de place. Mecznikow (2) a vu, non-seulement dans la tache de Wagner de plusieurs animaux inférieurs, mais aussi dans les cellules salivaires des larves de Fourmis, des mouvements spontanés des nucléoles. Balbiani (3) a fait une observation analogue en ce qui concerne les œufs des Araignées. Alexandre Brandt (4) a observé que dans les œufs de la *Periplaneta orientalis* la tache germinative affecte toutes sortes de formes et que ces changements, véritablement actifs, doivent être attribués à la contractilité de la substance nucléolaire. Il a observé que sous l'influence de la chaleur ces mouvements deviennent si actifs, qu'il est difficile de dessiner les changements de forme qui se succèdent.

Auerbach (5) a reconnu des changements de forme, présentant tous les caractères de mouvements amœboïdes, dans les grands nucléoles des cellules embryonnaires des Muscides et des taches germinatives de l'œuf du Brochet; Hertwig a vu le même phénomène se produire dans les nucléoles des œufs de Grenouille et aussi dans le corpuscule de Wagner de l'œuf chez le *Pterotrachea*. Il y a

---

(1) De la Valette. *Uber den Keimfleck und die Deutung der Eitheile.* Archiv. für mikrosk. Anat. Bd. II, 1866.

(2) Mecznikow. *Virchow's Archiv.* Bd. XLI.

(3) Balbiani (cité par Auerbach). Voir Keferstein. *Jahresbericht für* 1865.

(4) Alexander Brandt. *Uber active Formveränderungen der Kernkörperchens.* Archiv. für mikrosk. Anat. Bd. IX.

(5) L. Auerbach. *Organologische Studien.* Heft. I, pp. 167 et 168.

plus de quatre ans j'ai observé des changements de forme, des agrandissements et des diminutions de volume, en observant la tache de Wagner dans les cellules germinatives du *Polystomum integerrimum* et j'avais reconnu que la diminution de volume de ces nucléoles correspond avec la disparition de la vacuole, que l'on y observe à certains moments. J'ai reconnu aussi que les nucléoles, si nombreux dans les jeunes œufs de la Grenouille, exécutent aussi des mouvements consistant dans des changements de forme. J'ai fait ces observations peu de temps après avoir constaté la disparition et la réapparition alternatives des nucléoles, dans le noyau de la *Gregarina gigantea* (1). Depuis lors j'ai observé plusieurs fois le même fait chez le *Monocystis lumbricorum*. Cependant, chez cette espèce, il existe un nucléole plus volumineux que les autres, qui ne disparaît jamais, mais qui change continuellement de forme et dans lequel on voit apparaître et disparaître les vacuoles : tantôt le nucléole ne renferme qu'une seule vacuole très-étendue; quelques instants après il en montre une foule de petites, de toutes dimensions; à d'autres moments il n'en existe plus du tout. Mais d'autres recherches et des occupations nombreuses m'ont empêché de publier plus tôt ces observations. Je n'ai pas vu se produire sous mes yeux de changements de forme dans les nucléoles des œufs d'Étoile de mer; mais je ne doute pas que les différences constatées dans la forme de la tache germinative ne doivent être attribuées à la contractilité de la substance des nucléoles. Cette conviction résulte des observations que j'ai faites sur les

---

(1) Édouard Van Beneden. *Sur une nouvelle espèce de Grégarine, désignée sous le nom de* Gregarina gigantea. Bull. acad. roy. de Belg., 2e sér., t. XXVIII.

œufs mûrs, où j'ai vu le nucléole se résoudre en fragments et cette division de la tache germinative précéder immédiatement la disparition de cet élément.

Les pseudonucléoles, au nombre de 8 à 15, sont des corpuscules de volume variable, formés d'une substance beaucoup moins réfringente que la matière nucléolaire. Quelquefois ils se trouvent disséminés dans toute l'étendue de la vésicule germinative; plus souvent ils sont situés dans le voisinage du vrai nucléole. Ils ont une tout autre composition et d'autres propriétés que ce dernier. Il est donc inexact de dire, avec Hoffmann, que dans l'œuf de l'*Asteracanthion rubens* il existe de un à dix nucléoles.

Dans son travail Hertwig déclare se rallier à l'opinion de Auerbach, qui considère la membrane de la vésicule germinative, et des noyaux en général, comme produite par différenciation d'une couche mince de protoplasme autour d'une vacuole, qui serait remplie par la substance nucléaire. Sans vouloir ici développer ma manière de voir relativement à la constitution du noyau cellulaire en général, et de la vésicule germinative en particulier, je tiens à dire que je ne partage aucunement sur cette question l'opinion de Auerbach et de Hertwig. Un jeune noyau est formé par une matière homogène que j'ai appelée l'*essence nucléaire* (1). Quand ce jeune noyau grandit, l'essence nucléaire s'unit à une substance qui est enlevée au protoplasme de la jeune cellule et que j'ai appelée le *suc nucléaire*. La *substance nucléaire* qui résulte de cette union forme le corps du noyau. La membrane du noyau définitif aussi bien que les nucléoles sont des restes non modifiés du

---

(1) Édouard Van Beneden. *De la maturation de l'œuf, de la fécondation et des premiers phénomènes du développement embryonnaire des Mammifères*, page 50.

jeune noyau primitif : ils sont formés exclusivement par l'essence nucléaire. Au moment où un noyau va se diviser, les nucléoles aussi bien que la membrane nucléaire se dissolvent dans la substance nucléaire. Il en résulte que le contour du noyau devient très-peu apparent et que les nucléoles disparaissent. Tous ceux qui ont étudié la multiplication des cellules savent combien le noyau est difficile à voir au moment où la division de la cellule va se produire. C'est ce fait qui a donné lieu à la théorie d'après laquelle toute multiplication cellulaire serait précédée de la disparition des noyaux. La disparition momentanée et la réapparition des nucléoles dans le noyau des Grégarines sont des faits qui ont été signalés par moi dès 1869. Je n'ai pu en donner, à cette époque, aucune interprétation; mais il en résulte que ce n'est pas seulement au moment où une cellule va se diviser, que la substance nucléolaire peut se dissoudre dans le corps du noyau. Les observations dont je rendrai compte plus loin et qui montrent que la tache de Wagner aussi bien que la membrane se dissolvent dans la vésicule germinative, avant la disparition de ce dernier élément, prouvent également en faveur de mon opinion relativement à la signification de la substance qui constitue la membrane nucléaire aussi bien que les nucléoles. On sait en outre que chaque fois qu'une cellule va se diviser, il s'opère, après la dissolution des nucléoles et de la membrane, dans la substance nucléaire, une séparation complète entre l'*essence nucléaire* qui va former la zone équatoriale et le *suc nucléaire* qui est refoulé aux pôles du noyau. Celui-ci, après la division de la zone en deux disques nucléaires, qui doivent devenir les nouveaux noyaux, se refond dans le corps de la cellule.

Les vacuoles qui apparaissent dans un si grand nombre de nucléoles ne sont aussi, je pense, que le résultat de

l'union momentanée de certaines parties de la substance nucléolaire avec le suc nucléaire.

Je crois que cette manière de voir sur la constitution du noyau est la seule qui puisse rendre compte des caractères physiques et microchimiques de cet élément et de ses diverses parties, la membrane nucléaire, le corps du noyau et les nucléoles; elle repose tout entière sur les phénomènes que l'on connaît relativement aux manifestations vitales, au développement et à la multiplication des noyaux.

Si l'on rompt la membrane d'un œuf de l'Étoile de mer de façon à faire sortir son contenu dans l'acide osmique faible ou dans l'acide picrique, la vésicule germinative montre une particularité que j'ai pu constater aussi dans l'œuf vivant, après l'avoir observée d'abord dans la vésicule germinative isolée et traitée par ces réactifs. Il existe dans le noyau de l'œuf un réseau à grandes mailles, formé par une substance très-finement granuleuse. C'est dans ce réticulum que se trouvent les pseudonucléoles; la tache germinative paraît être le centre d'où partent les filaments réticulés. Les caractères de ce réseau varient du reste d'un œuf à l'autre : l'on observe même quelquefois, au lieu du réseau, un petit amas granuleux formé par la substance du réticulum et les pseudonucléoles. Ce réticulum je l'ai trouvé également chez le Lapin et j'ai proposé de désigner sous le nom de *Nucleoplasma* la substance qui le constitue. Le premier qui ait décrit un réseau semblable à celui de l'Étoile de mer est W. Flemming (1). Il a trouvé que chez les Anodontes et les Unio, le liquide transparent

---

(1) W. Flemming. *Studien in der Entwickelungsgeschichte der Najaden.* Aus dem LXXI Bande der Sitzb. der K. Acad. der Wissensch. zu Wien.

de la vésicule germinative est traversé par de nombreux filaments anastomosés. Kleinenberg a signalé quelque chose de semblable dans la vésicule germinative de l'Hydre d'eau douce; enfin Hertwig l'a observé chez le *Toxopneustes lividus* et dans l'œuf de la Souris. Je ne sache pas que l'on ait constaté rien de semblable ailleurs que dans le noyau de l'œuf (vésicule germinative). Je pense donc qu'il ne sera pas sans intérêt de faire connaître ici mes observations sur la constitution du noyau d'une énorme cellule qui constitue à elle seule toute la partie centrale du corps (*Leibeshöhle de Kölliker*) des Dicyema. Le noyau plus ou moins régulièrement ellipsoïdal présente une membrane épaisse sous laquelle existe un réseau très-serré formé par une matière finement granuleuse, tandis que le contenu du noyau (*substance nucléaire*) est parfaitement homogène et transparent. Le corps du noyau est traversé, chez certains individus, par un réticulum qui le fait ressembler à un tissu spongieux; chez d'autres individus il existe seulement un faisceau de filaments semblables à des pseudopodes. J'ai représenté (fig. 20 et 21) un de ces noyaux. Par le picro-carminate appliqué après avoir traité au préalable par l'acide osmique, la substance nucléaire se colore en rose; le nucléole et la membrane en rouge vif; la substance réticulée ne se colore pas. Il en est de même du réseau nucléoplasmique de la vésicule germinative du Lapin.

Mais si l'on ouvre l'ovaire d'une Étoile de mer au moment de la maturité sexuelle, on n'y trouve pas seulement des œufs semblables à ceux que je viens de décrire et qui se distinguent essentiellement en ce que, tout en ayant atteint les dimensions de l'œuf mûr, ils ont encore leur vésicule germinative au centre du vitellus; à côté de ces

œufs on en voit d'autres qui n'ont pas atteint leur maturité; d'autres, en tout semblables à ceux dont je me suis occupé précédemment, mais qui en diffèrent en ce que la vésicule germinative est devenue superficielle; d'autres enfin, qui ne montrent plus de trace de la vésicule de Purkinje. Cependant ces derniers œufs ne s'observent qu'exceptionnellement : l'immense majorité des œufs ovariens possèdent encore leur vésicule germinative.

Les œufs dans lesquels la vésicule germinative a gagné la surface du vitellus ne diffèrent guère de ceux qui ont été décrits plus haut : ils ont une forme ellipsoïdale ou spheroïdale; leur zone pellucide gonflée par l'eau de mer est fort épaisse et sa surface est tout à fait irrégulière. Le vitellus présente toujours les mêmes caractères; la vésicule germinative a conservé sa forme sphérique et toute la netteté de son contour. Il est difficile de reconnaître si elle est en contact immédiat avec la zone pellucide, ou si elle est séparée de cette membrane par une mince couche de protoplasme vitellin. Dans la vésicule se voient le nucléole et les pseudonucléoles au milieu d'un petit amas de granulations. Jamais je n'ai trouvé le réseau nucléoplasmique dans la vésicule germinative devenue superficielle, quelle que soit la méthode à laquelle j'aie eu recours pour m'assurer de sa présence. Dès que la vésicule germinative a pris sa position périphérique et superficielle, le nucléoplasma forme, avec les pseudonucléoles, une petite masse nucléoplasmique à côté du nucléole.

Si l'on reçoit dans un petit vase renfermant de l'eau de mer les œufs ovariens d'un ovaire complétement développé et si l'on y agite pendant un instant un fragment de testicule arrivé à maturité, un certain nombre d'œufs sont fécondés et deux heures ou deux heures et demie après avoir opéré la fécondation artificielle, on trouve au fond du

vase des œufs fractionnés. Si l'on prend soin de ne laisser dans le vase qu'un petit nombre d'œufs et de renouveler l'eau de temps en temps, le développement embryonnaire avance rapidement et au bout de deux à trois jours des embryons ciliés nagent librement dans l'eau. La fécondation artificielle a été opérée pour la première fois, chez un Échinoderme, par K. E. von Baër; après lui plusieurs embryogénistes ont eu recours au même procédé pour étudier le développement des Échinides, des Astérides et des Holothurides : je citerai Derbès, Krohn, Busch, J. Müller, A. Agassiz et Selenka.

Si quelques instants après avoir opéré la fécondation artificielle on place sur un porte-objet un certain nombre d'œufs, retirés, au moyen d'une pipette, du fond du vase dans lequel on a mélangé les produits sexuels, on remarque qu'une foule de spermatozoïdes se sont accolés à la surface de la zone pellucide. Ils agitent leurs queues avec une telle force, qu'ils parviennent à faire bouger les œufs. Si l'on choisit pour étudier les phénomènes successifs qui vont s'accomplir en lui un œuf présentant une vésicule germinative superficiellement placée, et si on l'observe d'une façon continue, on reconnaît que, trois quarts d'heure ou une heure après la fécondation, la vésicule germinative, si distincte au moment où l'on a commencé l'observation, a complétement disparu. On voit successivement ensuite le vitellus subir le phénomène du retrait, des corps directeurs (globules polaires) apparaître dans le liquide périvitellin; puis le globe vitellin primitif se fractionner en deux parties. Les œufs pourvus d'une vésicule germinative superficielle, au moment où l'on a opéré la fécondation, sont donc aptes à être fécondés aussi bien que ceux qui n'en montraient plus de traces dans l'ovaire. Pour s'assurer si la disparition de la vésicule germina-

tive est la conséquence de la fécondation, ou si elle est indépendante de l'action du sperme, il suffit de projeter dans un autre vase des œufs ovariens en ayant soin d'éviter, cette fois, tout mélange avec la liqueur spermatique. Si l'on observe, dans les conditions déterminées plus haut, des œufs retirés du fond de ce vase, on peut assister, tout comme lorsque l'on suit des œufs fécondés, aux phases successives de la disparition de la vésicule. Cette disparition est donc indépendante de l'action des spermatozoïdes. Cette conclusion pouvait du reste se déduire de ce fait que quelques œufs perdent déjà dans l'ovaire leur vésicule germinative et que néanmoins ces œufs sont parfaitement féconds.

Il était de la plus haute importance d'étudier les phases successives de la disparition de la vésicule, afin de pouvoir déterminer avec certitude comment cet élément disparaît. Rien n'est plus facile que de faire cette observation sur les œufs de l'Étoile de mer, ces œufs continuant à se développer sur le porte-objet et les changements qu'il s'agit de déterminer s'accomplissant sous les yeux mêmes de l'observateur. J'ai vu huit ou dix fois se dérouler sous mes yeux la série des modifications qui amènent la disparition complète de la vésicule de Purkinje. La succession des phénomènes est la même, soit qu'on observe un œuf fécondé, soit que l'on suive un œuf non fécondé. La série de ces changements s'accomplit dans le même temps dans l'un comme dans l'autre cas. Cependant je crois que la fécondation est souvent la cause occasionnelle de la disparition de la vésicule germinative, en ce sens que dans un œuf mûr la vésicule germinative disparaît dès que l'œuf est mis en présence du sperme, alors que cet élément aurait pu subsister encore quelque temps, si l'œuf n'avait pas été fécondé. C'est ce qui me paraît résulter de l'observation

suivante : si l'on porte dans deux vases des œufs d'un même ovaire et si l'on féconde les uns, en évitant avec soin que le sperme ne se mêle avec le contenu de l'autre, on observe qu'une heure après la fécondation tous les œufs mûrs du premier vase ont perdu leur vésicule, tandis que dans le second la plupart la montrent encore parfaitement distincte. Si parmi les œufs fécondés on en choisit un qui montre une vésicule germinative tout à fait superficielle, on peut être à peu près certain de voir la vésicule germinative disparaître en moins d'une heure. Il n'en est pas ainsi si l'on choisit parmi les œufs non fécondés un œuf dans les mêmes conditions.

Voici maintenant la série des modifications que l'on observe :

1° D'abord la petite masse granuleuse qui se trouve à côté du nucléole et qui se constitue du nucléoplasme et des pseudonucléoles, devient de moins en moins apparente; bientôt il devient impossible de la distinguer : la vésicule germinative ne renferme plus alors qu'un liquide tout à fait homogène et transparent sans autre granulation que la tache de Wagner (fig. 3 et 11).

2° Le contour de la vésicule germinative devient plus pâle; il en est de même du nucléole dont la substance paraît devenir de moins en moins réfringente. En même temps les vacuoles nucléolaires se réunissent en une seule vacuole centrale, qui apparaît comme une tache claire; celle-ci est circonscrite par un anneau irrégulier, formé d'une substance très-réfringente. Le nucléole devient très-irrégulier; sa surface parait bosselée et les bosselures sont séparées entre elles par des sillons. Le nucléole ressemble à une petite masse framboisée.

3° Le nucléole (tache germinative) se résout brusque-

ment en un grand nombre de fragments, qui vont en divergeant se répandre dans toute l'étendue de la vésicule germinative. Ces fragments sont d'inégal volume. Il en est toujours un, notablement plus volumineux que tous les autres, qui renferme la vacuole centrale de l'ancienne tache. Cette vacuole n'est plus circonscrite maintenant que par une mince couche de substance nucléolaire, apparaissant à la coupe optique comme un anneau étroit et irrégulier. Le contenu tantôt homogène de la vésicule germinative est maintenant granuleux; il tient en suspension de petits corps de forme et de dimensions variables, qui ne sont que des fragments du nucléole (fig. 4, 12 et 13).

4° Tous ces fragments nucléolaires augmentent un peu de volume et deviennent de moins en moins réfringents. Bientôt ils n'apparaissent plus que comme de petits nuages à contours peu définis, se détachant sur le fond uniformément homogène de la vésicule germinative. Ils finissent par se soustraire complétement à l'observation. Le fragment nucléolaire principal, celui qui renferme la vacuole centrale, est encore visible, quand tous les autres ont déjà disparu (fig. 14). Peu après, les derniers vestiges de ce corps disparaissent également. La vésicule germinative, toujours parfaitement sphérique, est maintenant tout à fait claire et transparente (fig. 15). On n'y distingue plus aucune trace de nucléole, ni aucune granulation d'aucun genre. Le contour de la vésicule est devenu de moins en moins foncé, comme si la substance de la membrane se fondait, en même temps que le nucléole, dans la substance nucléaire. La diminution progressive de la réfringence de la substance nucléolaire marche parallèlement avec l'affaiblissement du contour de la vésicule germinative.

5° Quelques instants après que les dernières traces de

la tache de Wagner ont disparu, la membrane de la vésicule germinative se déchire ou tout au moins se troue. Cette solution de continuité apparaît toujours dans cette partie de la vésicule qui est tournée vers le centre de l'œuf. Aussitôt le contenu de la vésicule s'écoule par le trou, en formant une gouttelette claire, extérieure à la vésicule. Cette gouttelette a l'apparence d'un bourgeon ou d'une hernie. Elle s'agrandit très-vite. En même temps la membrane de la vésicule se flétrit et se plisse. La vésicule germinative s'est maintenant un peu écartée de la surface et rapprochée du centre du vitellus. Elle est enveloppée de toutes parts par le protoplasme vitellin. Elle paraît un moment constituée de deux masses claires, adjacentes l'une à l'autre, qui tranchent, à cause de leur homogénéité, sur le fond granuleux du vitellus. L'une est formée par cette partie de la substance nucléaire, qui est encore renfermée dans la membrane flétrie de la vésicule germinative; l'autre a été produite par la gouttelette de substance nucléaire exprimée et projetée dans le vitellus (fig. 5, 6, 16 et 17).

6° La gouttelette extra-vésiculaire s'aplatit contre la vésicule dans le voisinage du trou par où elle est sortie. La masse nucléaire reprend alors une forme plus ou moins arrondie. Mais on distingue dans cette masse claire une ligne irrégulière qui sépare la partie intra-vésiculaire de la portion extra-vésiculaire de la substance nucléaire (fig. 6 et 18). Cette ligne est produite par la membrane devenue très-mince qui sépare les deux parties de la substance nucléaire. Cette ligne finit par disparaître complétement, ce qui prouve que la membrane se dissout entièrement dans la substance nucléaire. Il ne reste plus alors de la vésicule germinative qu'une tache claire dont les contours mal définis deviennent de plus en plus irréguliers. La tache devient de plus en plus

petite; elle finit par disparaître complétement. Il semble que la matière claire et homogène de la vésicule germinative devient granuleuse de la périphérie vers le centre. Cette apparence est probablement le résultat de la dissolution progressive de la substance nucléaire par le protoplasme vitellin.

Les phénomènes successifs qui précèdent la disparition complète de la vésicule germinative sont donc : 1° la dissolution dans le suc nucléaire de la masse nucléoplasmique et des pseudonucléoles; 2° la réduction en fragments de la tache germinative et la dissolution progressive de ces fragments dans la substance nucléaire; 3° la perforation de la membrane suivie de l'expulsion partielle du contenu du noyau; 4° la dissolution complète de la membrane dans le suc de la vésicule germinative; 5° enfin la dissolution probable de la substance nucléaire dans le protoplasme vitellin.

Les modifications que j'ai constatées dans le nucléole, la réduction des vacuoles en une vacuole unique, les changements de forme de cet élément, sa fragmentation ne peuvent s'expliquer à moins qu'on n'admette la contractilité de la substance nucléolaire. Cette manière de voir est du reste conforme à la conclusion que l'on a pu tirer des mouvements amœboïdes, que l'on a vu exécuter par les nucléoles d'autres cellules.

Les faits que je viens de rapporter n'ont pas été observés par M. Hertwig chez le *Toxopneustes lividus*. M. Hertwig pense, au contraire, sans que cependant l'observation directe lui permette de l'affirmer, que, chez cet Échinoderme, la tache germinative sort de la vésicule germinative pour devenir libre dans le vitellus et y former le noyau de l'œuf. Mais si j'en juge par les figures qu'il donne de la

vésicule germinative en voie de métamorphose régressive, je suis convaincu que la tache de Wagner subit, chez cet Échinoderme, la même fragmentation que j'ai signalée chez l'Étoile de mer. Je crois que les corps granuleux que M. Hertwig figure dans la vésicule germinative (fig. 3, 4, 5 et 6 de son mémoire) ne sont autre chose que des fragments agrandis de substance nucléolaire. Il est à remarquer que M. Hertwig ne donne dans son travail aucun renseignement au sujet de ces granules : il ne décrit pas les phénomènes relatifs à la métamorphose régressive de la vésicule : il se borne à dire : « Zur Reifezeit des Eies erleidet das Keimbläschen eine regressive Metamorphose und wird durch Contractionen des Protoplasma an die Dotteroberfläche getrieben. Seine Membran löst sich auf, sein Inhalt zerfällt und wird zuletzt vom Dotter wieder resorbirt, der Keimfleck aber scheint unverändert erhalten zu bleiben, in die Dottermasse selbst hineinzugelangen und zum bleibenden Kern des reifen befruchtungsfähigen Eies zu werden (1). »

De toutes les observations publiées jusqu'à présent quant à l'histoire de la vésicule germinative, les seules qui présentent de l'analogie avec celles que j'ai faites sur les Étoiles de mer sont les observations de Kleinenberg sur l'Hydre d'eau douce (2). Kleinenberg a reconnu, en effet, que chez cet animal la tache germinative de l'œuf mûr subit une métamorphose régressive; elle prend un contour irrégulier et anguleux; puis elle se divise en petits fragments qui finissent par se dissoudre. En ce qui

(1) O. Hertwig. *Loc. cit.*, pages 11 et 12.
(2) Kleinenberg. *Hydra*, page 42.

concerne la tache de Wagner, la description de Kleinenberg pourrait s'appliquer à l'Étoile de mer aussi bien qu'à l'Hydre d'eau douce. Quant à la description qu'il donne du mode de disparition de la vésicule germinative, elle diffère assez notablement de ce que j'ai vu chez l'Étoile de mer. Mais à la fin de sa description Kleinenberg dit : « une fois j'ai cru observer un véritable trou dans la membrane de la vésicule germinative. Si cela est un phénomène normal, il serait possible que le contenu de la vésicule sortît pour se mêler au plasma ambiant. » Je crois que la formation du trou que Kleinenberg a cru observer est un phénomène normal et que c'est par ce trou que le contenu de la vésicule est partiellement éliminé, aussi bien chez l'Hydre d'eau douce que chez l'Étoile de mer; c'est, à la suite de la résorption de sa membrane, que le contenu de la vésicule germinative se dissout dans le protoplasme vitellin. Cette identité des phénomènes qui amènent la disparition de la vésicule germinative chez l'Étoile de mer d'un côté, chez l'Hydre de l'autre, est trop significative pour qu'il soit nécessaire d'insister sur sa signification.

La dissolution du nucléole dans la substance nucléaire a déjà été constatée : j'ai observé depuis longtemps la disparition et la réapparition alternatives de nucléoles dans le noyau des Grégarines; Strasburger a reconnu que la fusion des nucléoles dans le corps du noyau précède constamment la division de cet élément et j'ai signalé le même fait dans mes recherches sur la division des cellules dans les feuillets de l'embryon du Lapin. Je crois que ce qui est vrai des nucléoles est vrai de la membrane nucléaire : la substance qui constitue cette membrane peut se dissoudre dans la substance nucléaire.

Quand j'ai fait, il y a dix-huit mois, les observations

dont je viens de rendre compte, j'avais l'intention d'étudier aussi l'origine des globules polaires et le mode de formation du premier noyau embryonnaire. Mais je fus interrompu dans mon étude des premiers phénomènes du développement de l'œuf. Un jour que je n'avais pas d'Astéries à ma disposition, on m'apporta divers Zoophytes que je voulus utiliser pour tâcher d'élucider la question de l'origine des organes sexuels. Dès que j'eus entamé l'étude de cette question chez les Hydractinies, j'entrevis la possibilité d'arriver à une solution positive. J'abandonnai momentanément, comptant pouvoir la reprendre quand je le voudrais, l'étude du développement de l'Étoile de mer; mais je n'ai plus eu l'occasion, depuis cette époque, de compléter mes premières recherches. J'ai vu les corps directeurs se former sous mes yeux; je suis en mesure d'affirmer qu'un nouveau noyau apparaît dans le vitellus avant le premier fractionnement; mais je n'ai pu reconnaître, ni comment se forment les corps directeurs, ni comment apparaît le premier noyau de l'embryon.

Si je compare les résultats de mon étude sur la vésicule germinative de l'Étoile de mer à mes observations sur le Lapin, je trouve une analogie complète, quant aux faits essentiels, mais aussi des différences dont je ne veux pas diminuer l'importance. Chez le Lapin comme chez l'Étoile de mer la vésicule germinative disparaît en tant qu'élément morphologique; aucune partie formée de la vésicule germinative n'existe plus dans l'œuf au moment où l'on voit apparaître le premier noyau embryonnaire; aucun lien génétique ne peut donc exister entre la vésicule germinative ou l'une de ses parties et le premier noyau de l'embryon.

Mais tandis que chez l'Étoile de mer l'amas nucléoplas-

mique, la tache germinative et la membrane de la vésicule germinative se dissolvent dans la substance nucléaire et secondairement dans le protoplasme vitellin, chez les Mammifères ces éléments sont rejetés dans le liquide périvitellin pour former les corps directeurs, et le contenu seul de la vésicule germinative reste dans le vitellus. Puisque chez l'Étoile de mer des corps directeurs sont éliminés par le vitellus, il est possible que ces corps soient formés, chez les Échinodermes comme chez les Mammifères, l'un par la substance nucléoplasmique, l'autre par la matière nucléolaire jointe à la substance de la membrane. Seulement chez certains animaux (Astéracanthion, Hydra), ces substances ne seraient éliminées qu'après avoir été dissoutes, au préalable, par le vitellus, tandis que chez d'autres animaux ces parties du noyau seraient expulsées directement. Il faut bien le reconnaître, c'est là une simple hypothèse. Mais quoi qu'il en soit, il résulte de mes observations qu'il ne peut exister, ni chez l'Étoile de mer ni chez le Lapin, aucune filiation entre la tache germinative et le premier noyau embryonnaire.

II. — Il est un second point dans les observations et dans la manière de voir de M. Hertwig qui me paraît inconciliable avec les résultats de mes recherches sur le Lapin.

La tache claire qui apparaît dans la couche corticale du vitellus est-elle du protoplasme dépourvu de granulations et le corpuscule qui s'y trouve logé et que Hertwig considère comme une tête spermatozoïde est-il un noyau de cellule, ou bien la tache claire est-elle un corps nucléaire et le corpuscule englobé est-il un élément nucléolaire dépourvu de tout lien morphologique avec un spermatozoïde?

Le *Spermakern* de Hertwig est une tête de spermatozoïde logée dans une tache claire. Celle-ci est formée par du protoplasme dépourvu de granulations. Mon pronucleus périphérique, qui est bien certainement homologue de la tache claire de Hertwig et des noyaux périphériques de Auerback, de Bütschli et de Strasburger, est, pour me servir des termes employés dans ma communication préliminaire, « un petit corps arrondi, homogène, dépourvu de toute granulation ; il a vraiment l'apparence d'une vacuole. Mais en traitant par l'acide osmique la substance claire de la soi-disant vacuole se fonce et se teinte en gris, tandis que la substance du vitellus se colore en brun. » C'est plus tard seulement, quand le pronucleus s'est déjà enfoncé dans le vitellus, que l'on voit apparaître à son intérieur *plusieurs* corpuscules très-réfringents que l'on prendrait pour autant de nucléoles, si on les observait dans un noyau ordinaire. Si nos observations concordent donc en ce que nous avons vu l'un et l'autre que le corps qui apparaît dans le vitellus, près de la surface de l'œuf, est une tache claire pourvue d'un (Hertwig) ou de plusieurs (moi) corpuscules réfringents, elles diffèrent *a*) en ce qui concerne le moment de l'apparition des éléments nucléoliformes; *b*) en ce qui concerne le nombre de ces éléments; *c*) en outre l'interprétation des faits observés est différente : M. Hertwig voit dans le corpuscule réfringent un noyau (*Spermakern*) et ce noyau n'est d'après lui qu'une tête de spermatozoïde; l'espace clair dans lequel on l'observe est occupé par du protoplasme vitellin. Dans mon opinion la tache claire est un pronucleus; les corpuscules clairs qui apparaissent plus tard sont des éléments nucléolaires, dont je n'ai pas pu observer le mode de formation, mais qui, dans mon opinion, fondée surtout sur le moment de leur apparition, leur nombre et

leurs caractères même, ne peuvent être des têtes de spermatozoïdes.

Je ferai d'abord deux observations toutes à l'avantage de M. Hertwig : 1° M. Hertwig a vu les phases successives de la formation du premier noyau de segmentation se produire sous ses yeux, en observant un même œuf qui continuait à se développer sur le porte-objet, tandis que mes conclusions reposent sur la comparaison d'un grand nombre d'œufs à différents états de développement.

2° L'opinion de M. Hertwig, en ce qui concerne la signification de son noyau spermatique, repose sur un fait positif : il a vu de ce corps partir une ligne se prolongeant, en dehors du vitellus, par un filament spermatique. Quant à moi, je n'ai pas pu me rendre compte de la formation de mes éléments nucléolaires et mon opinion, relativement à la signification de ces éléments, repose en définitive sur des faits négatifs.

Mais tous ceux qui ont fait des observations du genre de celles dont il s'agit ici reconnaîtront combien il est facile de se tromper sur la signification d'une ligne fine observée dans le vitellus d'un œuf volumineux. On peut assez facilement se faire illusion relativement à la continuité d'une semblable ligne avec un filament spermatique appliqué immédiatement contre la surface du vitellus et sous la membrane de l'œuf. D'un autre côté, Hertwig dit lui-même qu'il n'a jamais vu un spermatozoïde plonger sa tête dans le vitellus et cette tête devenir son noyau spermatique. La démonstration directe fait donc encore défaut.

Quant à l'opinion que Hertwig a émise relativement à la nature nucléaire de sa tête de spermatozoïde, elle me paraît peu justifiable. Je ne vois aucune raison d'appeler *noyau de cellule* ce petit corps qui est aux yeux de l'auteur

une tête de spermatozoïde. La tache claire qui loge le corpuscule homogène me paraît présenter bien plutôt les caractères d'un élément nucléaire. Cependant on ne peut donner le nom de noyau de cellule ni à la tache claire ni au corpuscule qui s'y trouve logé; car l'élément d'apparence nucléaire qui se forme près de la surface du vitellus ne devient le noyau du premier globe de segmentation qu'après s'être uni à un autre élément présentant lui aussi l'apparence d'un noyau de cellule. C'est pour ce motif que j'ai désigné le corps périphérique sous le nom de pronucleus périphérique, l'élément qui se forme au centre du vitellus sous le nom de pronucleus central.

Si l'on concède, ce qui ne me paraît guère douteux, que les petits corps réfringents de mon pronucleus périphérique sont homologues du *Spermakern* de Hertwig, que de même qu'il existe des noyaux à nucléole unique et des noyaux à nucléoles multiples, il peut se trouver aussi des pronuclei à corpuscule unique et d'autres à corpuscules multiples, alors il me semble que l'opinion de Hertwig, qui voit dans son noyau spermatique une tête de spermatozoïde, devient très-peu probable. Chez les Mammifères les éléments nucléolaires du pronucleus périphérique n'ont certainement pas cette signification. En effet :

1° Le pronucleus, au moment où il apparaît, est dépourvu, chez le Lapin, de toute granulation. Or, ceci ne se concevrait pas dans l'hypothèse de Hertwig : la formation de la tache claire est pour lui la conséquence de la fécondation; or la fécondation débute par la pénétration du spermatozoïde. La formation de la tache doit donc être toujours consécutive à la pénétration du spermatozoïde. La tache doit donc se former autour de la tête du Zoosperme ; mais la tête ne peut jamais pénétrer dans une

tache préformée. On ne devrait donc jamais observer de pronucleus périphérique dépourvu d'au moins un corpuscule nucléolaire.

2° Le pronucleus est pourvu, chez les Mammifères, de plusieurs granulations. Ces granulations n'ont ni l'apparence, ni les dimensions des têtes de spermatozoïdes : ils sont des globules sphériques ou ovoïdes, dont les dimensions sont très-différentes : les plus petits sont presque punctiformes et les plus gros eux-mêmes n'ont pas la moitié du volume des têtes des spermatozoaires.

3° Auerbach, Bütschli et Strasburger ont vu avant Hertwig et avant moi, soit chez les Nématodes, soit chez les Mollusques, soit chez les Ascidies, tantôt un, tantôt plusieurs éléments clairs apparaître près de la surface de l'œuf. Tous trois décrivent ces corps comme des globules homogènes au début, dépourvus de toute granulation au moment de leur apparition. D'après les observations de Auerbach, qui sont en cela tout à fait conformes à ce que j'ai vu chez les Mammifères, il apparait dans le liquide homogène de ces noyaux, 3 à 6 corpuscules réfringents que Auerbach appelle des nucléoles. Il n'existe pas la moindre analogie entre ces corpuscules et des spermatozoïdes de Nématodes.

4° Des corpuscules réfringents, tout à fait identiques à ceux qui apparaissent dans le pronucleus périphérique, se montrent également, chez le Lapin, dans le pronucleus central.

5° Des corpuscules, tout à fait semblables à ceux que l'on observe dans le pronucleus périphérique, existent dans les noyaux complétement développés des globes de segmentation, et ces corpuscules sont bien certainement des nucléoles.

L'opinion émise par Hertwig d'après laquelle le corps clair, qui se forme près de la surface de l'œuf ne serait pas un élément nucléaire, mais du protoplasme dépourvu de granulations, me paraît insoutenable en ce qui concerne les Mammifères, pour les raisons suivantes :

1° La substance claire du pronucleus périphérique ne se conduit pas, vis-à-vis des réactifs, comme du protoplasme vitellin, mais bien comme la substance qui forme les noyaux des globes de segmentation. Si l'on traite par l'acide osmique à 1 °/₀ le pronucleus ne se colore pas en brun comme le protoplasme vitellin ; il apparaît, au contraire, dans le fond brun du vitellus comme une tache grise à contours bien définis. Par le picrocarminate le pronucleus se colore faiblement en rose. Par l'hématoxyline il se teint en bleu violacé.

2° Le pronucleus périphérique, après s'être accolé au pronucleus central, qui présente après un certain temps le même aspect que lui, s'agrandit et ses bords deviennent de plus en plus distincts. Les éléments nucléolaires persistent un certain temps, mais bientôt ils disparaissent et c'est le pronucleus périphérique agrandi, et non pas un des corpuscules réfringents, qui devient le premier noyau embryonnaire.

3° Ma manière de voir est conforme à l'opinion exprimée par Auerbach, par Bütschli et par Strasburger qui tous trois ont considéré les corps clairs qui se forment à la périphérie de l'œuf comme des éléments nucléaires.

Je conclus de tout ce qui précède, que la manière de voir de Hertwig, en ce qui concerne le mode de formation, la constitution et la signification morphologique du corps clair, qui apparaît, près de la surface de l'œuf, chez le *Toxopneustes lividus*, est fort peu probable. Je pense que

ce corps, homologue du pronucleus périphérique du Lapin, est un élément nucléaire et que le corpuscule qu'il renferme et que Hertwig appelle « noyau spermatique » n'est pas une tête de spermatozoïde, mais, au contraire, un élément nucléolaire homologue de ceux qui existent en grand nombre dans le pronucleus périphérique des Mammifères, des Nématodes et des Ascidies.

J'ai constaté que le nombre de ces éléments nucléolaires est très-variable chez les Mammifères. Chez le Lapin il varie d'un œuf à l'autre. Dans tous les œufs de Chéiroptères pourvus de deux pronuclei, que j'ai eus sous les yeux, chacun de ces éléments renfermait un élément nucléolaire unique (1). Ces variations dans le nombre des nucléoles ont été signalées aussi par Auerbach chez les Nématodes; par Strasburger chez les Ascidies.

Mais quoi qu'il en soit des divergences d'opinions qui existent entre M. Hertwig et moi sur certains faits étudiés par nous et sur l'interprétation qu'il convient de leur donner, il reste établi que, travaillant indépendamment l'un de l'autre, lui le développement d'un Échinoderme, moi l'ontogénie du Lapin, nous sommes arrivés aux mêmes conclusions sur les points suivants : 1° Immédiatement après la fécondation il existe dans l'œuf deux éléments nucléaires différents : l'un superficiel et périphérique, l'autre central ; 2° le premier noyau embryonnaire résulte de l'union de ces deux pronuclei; 3° ce premier noyau est le produit d'une véritable conjugaison entre un élément mâle (pronucleus périphérique) et un élément femelle (pronuncleus central.)

S'il m'était permis d'exprimer une vue hypothétique sur

---

(1) Voir Édouard Van Beneden. *De la maturation de l'œuf*, etc., p. 18.

Ed. Van Beneden ad. nat. del.

Lith par G. Severeyns Bruxelles

Asteracanthion rubens.

ROYAL COLLEGE OF SURGEONS

l'interprétation qu'il convient de donner de l'organisme des Infusoires, je dirais que dans mon opinion les Infusoires représentent à l'état permanent la phase passagère de l'évolution des organismes supérieurs, durant laquelle la première cellule embryonnaire est pourvue de deux pronuclei. Le nucléole des Infusoires est homologue du pronucleus périphérique; le noyau des infusoires est *homologue* du pronocleus central. L'ectosarc et l'endosarc des êtres monocellulaires sont respectivement *homologues* de la couche corticale (*Hautschicht exoplasma*) et de la matière médullaire (*endoplasma*) des cellules ordinaires. Ces deux couches des Protozoaires sont *analogues* à l'ectoderme et à l'endoderme des Métazoaires. De même que chez les Métazoaires la fécondation consiste dans l'union d'une cellule endodermique avec un élément ectodermique; de même chez les Protozoaires la fécondation consiste dans l'union d'un élément ectosarcique (nucléole) avec un élément endosarcique (noyau).

EXPLICATION DE LA PLANCHE.

1-19. *Asteracanthion rubens.*

Fig. 1. Un œuf ovarien arrivé à maturité, mais présentant encore sa vésicule germinative au centre du vitellus.

— 2 à 8 représentent un seul et même œuf, dans lequel les diverses phases de la disparition de la vésicule germinative ont été observées. J'ai vu ultérieurement dans le même œuf le retrait du vitellus se produire, le vitellus prendre une forme à peu près sphérique, les globules polaires apparaître dans le liquide périvitellin, le premier noyau embryonnaire se montrer au centre

du vitellus, enfin le vitellus se fractionner en deux globes. Je n'ai pas figuré ces dernières modifications, pas plus que je ne les ai décrites dans le texte, parce que je n'ai pu observer, ni comment se forment les corps directeurs, ni comment se produit le premier noyau embryonnaire. Si je cite ces dernières modifications comme s'étant produites sous mes yeux dans l'œuf dans lequel j'ai vu se dérouler la série des modifications figurées, (fig. 2 à 8), c'est parce que ces faits établissent que cet œuf était normal et s'est développé normalement, quoique sa forme ovale soit exceptionnelle pour un œuf mûr. Tous les autres œufs, chez lesquels j'ai vu la vésicule germinative disparaître, étaient sphériques ou se rapprochaient beaucoup de la sphéricité parfaite.

Fig. 2. A côté du nucléole bosselé et dans lequel on n'observe plus qu'une vacuole unique se voient encore des pseudonucléoles.

— 3. Les pseudonucléoles ont disparu et le nucléole paraît constitué par un certain nombre de globules agglutinés autour d'un corpuscule central clair et transparent.

— 4. Le nucléole s'est résolu en un grand nombre de fragments, dont la réfringence diminue peu à peu, en même temps que le contour de la vésicule devient moins marqué.

— 5. Les dernières traces du nucléole ont disparu. La membrane de la vésicule germinative s'est rompue et le contenu sort par l'orifice.

— 6 et 7. Le contenu de la vésicule est en grande partie sorti; la membrane de la vésicule se flétrit et le volume occupé par la matière germinative diminue.

— 8. Les dernières traces de la vésicule germinative ont disparu.

— 9. Vésicule germinative d'un œuf semblable à celui que j'ai représenté fig. 1, et vue au moyen d'un système 10 (Immersion) de Hartnack, après sa sortie du vitellus. Dans le réseau nucléoplasmique se trouvent le nucléole et les pseudonucléoles.

— 10 à 16. Modifications successives subies par la vésicule germinative d'un même œuf telles qu'elles se sont produites sous mes yeux.

— 10. A côté du nucléole se voient des pseudonucléoles en suspension dans un amas de matière granuleuse (nucleoplasma).

— 11. Les pseudonucléoles ont disparu. Le nucléole s'est divisé en un grand nombre de fragments, qui s'écartent très-rapidement les uns des autres, pour se répandre dans toute l'étendue de la vésicule germinative, ce que montrent les figures 12 et 13. On re-

marque aussi la diminution graduelle de la réfringence de la substance nucléolaire.

Fig. 14. La partie centrale du nucléole reste seule visible.

— 15. Toute trace de nucléole a disparu.

— 16. La membrane s'est rompue et le contenu de la vésicule sort.

— 17, 18 et 19. Trois phases successives de la disparition de la substance germinative. Ces modifications se sont opérées dans l'espace de 12 minutes.

20-21. *Dicyema Eledones.*

Les deux figures représentent le noyau de la cellule centrale du corps du *Dicyema Eledones*. Kölliker et Wagener, croyant que le corps de ces organismes est creux, ont désigné la prétendue cavité centrale du corps sous le nom de *Leibeshöhle*.

D'après mes observations qui portent à la fois sur l'organisation et sur le développement du Dicyema, il n'existe pas de cavité générale du corps. L'axe du corps cylindroïde est occupé par une immense cellule qui s'étend de l'extrémité céphalique à l'extrémité caudale de l'organisme. C'est dans cette cellule, remplie par un contenu clair et hyalin, traversé par un réseau protoplasmique, que les germes prennent naissance et que les embryons se développent. C'est le noyau de cette cellule que j'ai figuré.

La figure 20 montre le noyau tel qu'il se présentait à la coupe optique. Le noyau est circonscrit par une membrane épaisse. Il est rempli par une substance nucléaire claire, homogène, incolore et transparente; il est traversé par des traînées de nucléoplasme. A gauche se trouve le nucléole formé par une mince couche périphérique de substance nucléolaire; il possède une grande vacuole. Près du pôle supérieur du noyau se voient de grosses granulations (pseudonucléoles?).

La figure 21 représente le même noyau vu à la surface, pour montrer le réseau nucléoplasmique étendu sous la membrane nucléaire. (Imm. 10, Hartnack.)

—